

10 Re PCT/JP 07 SEP 2004

REC'D 10 SEP 2004

特 許 協 力 条 約

WIPO

PCT

PCT

CORRECTED
VERSION

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
(PCT36条及びPCT規則70)

出願人又は代理人 の書類記号 PCT-NU-006	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP03/02394	国際出願日 (日.月.年) 28.02.2003	優先日 (日.月.年) 04.03.2002
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ C07K14/80, 7/06, 7/08, 1/12, 1/16, A61K38/17, A61P3/00, 7/00, 9/00, 43/00		
出願人(氏名又は名称) 学 校 法 人 日 本 大 学		

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。
☒ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第6.07号参照)
この附属書類は、全部で 4 ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
 - ☒ 国際予備審査報告の基礎
 - ☐ 優先権
 - ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
 - ☐ 発明の単一性の欠如
 - ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
 - ☐ ある種の引用文献
 - ☐ 国際出願の不備
 - ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 07.05.2003	国際予備審査報告を作成した日 14.01.2004	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員)	4N 9451
	坂 崎 恵 美 子 電話番号 03-3581-1101 内線 3488	

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
 応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
 PCT規則70.16, 70.17)

☐ 出願時の国際出願書類

- ☒ 明細書 第 1-11 ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 請求の範囲 第 1-3 項、 出願時に提出されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
 請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 請求の範囲 第 4-22 項、 25.11.2003 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☒ 明細書の配列表の部分 第 1/5-5/5 ページ、 出願時に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☒ この国際出願と共に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された磁気ディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☒ 書面による配列表に記載した配列と磁気ディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条（PCT35条(2)）に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性 (N)

請求の範囲 1-22 有
請求の範囲 無

進歩性 (IS)

請求の範囲 18-22 有
請求の範囲 1-17 無

産業上の利用可能性 (IA)

請求の範囲 1-22 有
請求の範囲 無

2. 文献及び説明 (PCT規則70.7)

文献1 : Samya Othman et al. "Resonance Raman investigation of lysine and N-acetylmethionine complexes of ferric and ferrous microperoxidase"
European Biophysics Journal, 1999, Vol.28(1), p.12-25, 文献全体参照

文献2 : Jinn-Shyan Wang et al. "Temperature- and pH-dependent Changes in the Coordination Sphere of the Heme c Group in the Model Peroxidase N^α-Acetyl Microperoxidase-8"
The Journal of Biological Chemistry, 1992, Vol.267(22), p.15310-15318, 文献全体参照

文献3 : Shyamalava Mazumdar et al. "Stability and Characterization of Iron(III) and Iron(II) Heme Peptides Encapsulated in Aqueous Detergent Micelles: ¹H NMR and UV-Vis Spectroscopic Studies"
Inorganic Chemistry, 1991, Vol.30(4), p.700-705, 文献全体、特にFig1参照

文献4 : Seiji Yamada et al. "Characterization and Amino Acid Sequences of Cytochromes c₈ from Two Strains of the Green Alga *Chlorella vulgaris*"
Bioscience Biotechnology and Biochemistry, 2000, Vol.64(3), p.628-632, 文献全体参照

文献5 : Richard E. Dickerson et al. "Ferricytochrome c"
The Journal of Biological Chemistry, 1971, Vol.246(5), p.1511-1535, 文献全体、特にFig.1及びAPPENDIX参照

文献6 : Seiji Yamada et al. "Structure of cytochrome c₈ from the red alga *Porphyra yezoensis* at 1.57 Å resolution"
Acta Crystallographica Section D; Biological Crystallography, 2000, Vol.D56(12), p.1577-1582, 文献全体、特にFigure4参照

文献7 : "一酸化窒素(NO)のヘムタンパク質による捕捉"
化学と生物, 1996, Vol.34(12), p.784-785, 文献全体参照

文献1には、ポルフィリンとMP8ペプチドでヘムcが配位されたヘムペプチドが記載されており、MP8由来のCys-Ala-Gln-Cys-HisペプチドのHisがヘムcに結合している場合に安定化する旨の記載もされている。

補充欄 (いずれかの欄の大きさが足りない場合に使用すること)

第 V 欄の続き

文献2には、MP-8がシトクロムcを分解することにより得られるCys-Ala-Gln-Cys-His-Thr-Val-Gluからなるオクタペプチドであり、MP-8がHisを介して6つの配位子からなる鉄複合体の配位子のひとつを形成する旨の記載がされている。

文献3には、シトクロムcをトリプシン処理するとCys-Ala-Gln-Cys-His-Thr-Val-Gluからなるヘムオクタペプチドが得られ、キモトリプシン処理するとVal-Glu-Lys-Cys-Ala-Gln-Cys-His-Thr-Val-Gluからなるヘムウンデカペプチドが得られる旨の記載がされている。

文献4には、シトクロムcのヘム結合ドメインが-CXXCH-のモチーフを有する旨の記載がされている。

文献5には、ウマ由来のシトクロムcが記載されている。

文献6には、紅藻スサビノリ (*Prophyra yezoensis*) 由来のシトクロムcが記載されている。

文献1には、MP8とポルフィリンを配位子とする鉄との複合体が記載されており、文献1-2にはMP8のヒスチジンを介して配位している時に安定化する旨が記載されていることから、MP8とポルフィリンを配位子とする鉄複合体を得ることは、当業者が容易に想到することである。

また、文献3に記載されているように、シトクロムcをトリプシンやキモトリプシンで処理すると、Cys-Ala-Gln-Cys-Hisを有するペプチドが得られ、文献4に記載されているように、-CXXCH-からなる配列がヘム結合モチーフであることは、本願優先権主張日前公知であるから、シトクロムcをトリプシン等の制限酵素で処理し、クロマト等で精製することにより、Cys-Ala-Gln-Cys-His等の-CXXCH-モチーフを含むペプチドからなるヘムペプチドを得ることは、当業者であれば容易に行うことである。そして、精製の際に、タンパク質の純度を向上させるために、周知慣用の精製方法の中から適切なものを選択することは、当業者であれば通常行う範囲のことである。さらに、シトクロムcとして、文献5-6に記載されているような、ウマや紅藻スサビノリ由来のシトクロムcを原料とすることも、当業者が通常行う範囲のことである。

したがって、請求の範囲1-17は、文献1及び5に基づいて、当業者が容易に想到したものと認められる。

文献7には、ヘムタンパク質であるシトクロムcが変性により、さらに高いNO捕捉力を有する旨の記載がされている。

請求の範囲18-22に係る各発明は、国際調査報告で引用された何れの文献にも開示されておらず、新規性を有する。また、文献7には、ヘムタンパク質であるシトクロムcが変性により、さらに高いNO捕捉力を有する旨の記載がされているが、ヘムペプチドがNO捕捉作用を有することは記載されておらず、その点については当業者といえども容易に想到し得ないものである。